

Aus der Universitäts-Kinderklinik in Marburg  
Direktor: Professor Dr. med. F. Linneweh

---

ÜBER DIE ENTWICKLUNG VERSCHIEDENER  
LEBERENZYME AN RATTEN WÄHREND DER  
PRAE- UND POSTNATALPERIODE

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der  
Philipps-Universität zu Marburg  
vorgelegt von

RAINER KOCH  
aus Heinebach

Marburg 1974

---

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Aus der Universitäts-Kinderklinik in Marburg  
Direktor: Professor Dr. med. F. Linneweh

---

ÜBER DIE ENTWICKLUNG VERSCHIEDENER  
LEBERENZYME AN RATTEN WÄHREND DER  
PRAE- UND POSTNATALPERIODE

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der  
Philipps-Universität zu Marburg  
vorgelegt von

RAINER KOCH

aus Heinebach

Marburg 1974

---

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Angenommen von der Medizinischen Fakultät der  
Philipps-Universität Marburg a.d.Lahn  
am 16. August 1974

Dekan: Prof. Dr. H. Oepen  
Referent: Prof. Dr. F. Linneweh  
Correferent: Prof. Dr. C. E. Sekeris

## Inhaltsverzeichnis

|                                                                                                                       | Seite |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| I. EINLEITUNG                                                                                                         | 1     |
| II. METHODIK                                                                                                          | 3     |
| 1. Leberzellhomogenat zur Bestimmung von 6-PGDH, G-6-PDH, FDPase, G-6-PK, GAPDH, G-3-PK, PK, LDH, GPT, GOT und Glu-DH | 3     |
| 2. Leberzellhomogenat zur G-6-Pase-Bestimmung                                                                         | 4     |
| 3. Durchführung der Glycogen-Bestimmung                                                                               | 4     |
| 4. Bestimmung der Enzymaktivitäten mit Hilfe des optischen Tests.                                                     | 5     |
| A.) Bestimmung der Lactat-Dehydrogenase (LDH)                                                                         | 5     |
| B.) Bestimmung der Fructose-1, 6-diphosphatase                                                                        | 6     |
| C.) Bestimmung der G-6-P-Dehydrogenase (ZF)                                                                           | 7     |
| D.) Bestimmung der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)                                                                | 8     |
| E.) Bestimmung der Glycerat-3-Phosphatkinase (G <sub>3</sub> -PK)                                                     | 8     |
| F.) Bestimmung der 6-Phospho-Gluconat-Dehydrogenase (6-PGDH)                                                          | 9     |
| G.) Bestimmung der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)                                                             | 10    |
| H.) Bestimmung der Fructose-6-Phosphatkinase (F-6-PK)                                                                 | 11    |
| I.) Bestimmung der Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH)                                                     | 12    |
| K.) Bestimmung der Pyruvat-Kinase (PK)                                                                                | 13    |
| L.) Bestimmung des Glycogens                                                                                          | 14    |
| M.) Proteinbestimmung                                                                                                 | 14    |

|      |                                                             |    |
|------|-------------------------------------------------------------|----|
| III. | ERGEBNISSE                                                  |    |
| 1.)  | Zusammenfassende Darstellung aller Meßergebnisse            | 16 |
| 2.)  | Einteilung der Ergebnisse in drei verschiedene Enzymgruppen | 25 |
|      | a) Typ 1                                                    |    |
|      | b) Typ 2                                                    |    |
|      | c) Typ 3                                                    |    |
| 3.   | Übersicht aller Meßwerte                                    |    |
| IV.  | DISKUSSION                                                  | 30 |
| V.   | ZUSAMMENFASSUNG                                             | 41 |
| VI.  | LITERATURVERZEICHNIS                                        |    |
| VII. | VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN                                 |    |

## I. EINLEITUNG

Die Umstellung vom intra- zum extrauterinen Leben stellt für den Organismus eine tiefgreifende Änderung der Umweltbedingungen dar. Während dieser Zeit erfahren die Kontrollsysteme des Stoffwechsels teilweise eine deutliche Wandlung. Diese Umstellung der einzelnen Stoffwechselsysteme erfolgt nicht abrupt, sondern unterliegt einer sich allmählich ausbildenden individuellen Anpassung.

Ein Maß für die Veränderung der Stoffwechselsituation sind Anstiege oder Abfälle von Enzymaktivitäten während dieser kritischen Zeitspanne.

Bei den bisher vorliegenden Untersuchungen handelte es sich überwiegend um die Bestimmung von einzelnen Enzymaktivitäten verschiedener Versuchstiere.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, durch umfangreiche Enzymuntersuchungen während der prae- und postnatalen Zeit einzelne Stoffwechselleistungen dieser Entwicklungsperiode systematisch zu untersuchen. Es wurden die Aktivitäten von 12 verschiedenen Leberenzymen der Glykolyse und des Aminosäurenstoffwechsels bei unterschiedlichen Altersstufen gemessen. Als Versuchstiere wurden die Feten gravider Wistar-Ratten sowie die Neugeborenen verwendet. Abb. 1 zeigt eine Übersicht der untersuchten Enzyme des Glukose- und Aminosäurenstoffwechsels.

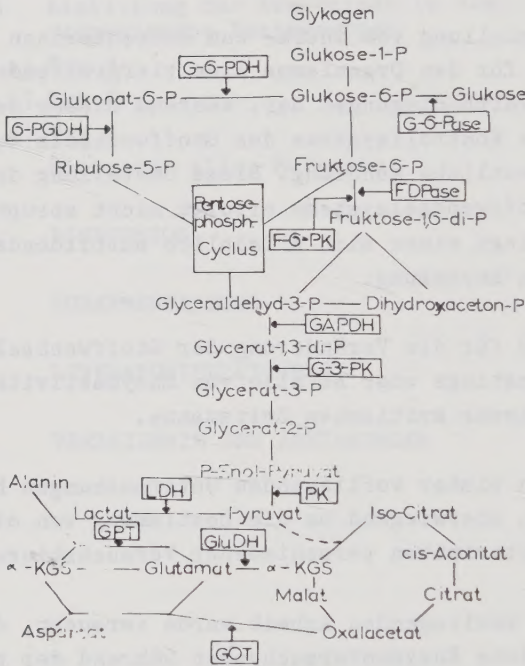


Abb. 1

## II. M E T H O D I K

Für die Untersuchungen wurden mit Standardfutter ad libitum ernährte gravide Wistar-Ratten verwendet. Das Körpergewicht der Versuchstiere betrug 200 - 250 g.

Nach Thalamonal-Narkose (0,4 ml/200,0 Tiergewicht i.m.) des Muttertieres konnten die Feten schonend entnommen werden. Die Bestimmung des Gestationsalters erfolgte nach der von Gonzales (16) angegebenen Methode. Nach Dekapitation und Entblutung wurden die fetalen Rattenlebern zur weiteren Verarbeitung entnommen.

Präparation der verschiedenen Leberzellhomogenat für:

1. die Bestimmung der 6-PGDH, G-6-PDH, FDPase, F-6-PK, GAPDH, G-3-PK, PK, LDH, GPT, GOT und Glu-DH
2. die Bestimmung der G-6-Pase
3. die Bestimmung des Leberglycogens

### 1. Leberzellhomogenat zur Bestimmung von 6-PGDH, G-6-PDH, FDPase, F-6-PK, GAPDH, G-3-PK, PK, LDH, GPT, GOT und Glu-DH:

Das gedrittelte und mit Aq. dest. abgespülte Lebergewebe der Tiere eines Wurfes wurden in 0° C vorge-

kühlten Zylindergläsern gewogen und pro Gramm Leberfrischgewicht mit 10 ccm 0,1 mol Phosphatpuffer versetzt. Die Zerkleinerung erfolgte mit einem Ultraturraxgerät unter ständiger Kühlung mit Eiswasser 3 x 20 sec. mit jeweils 60 sec. Unterbrechung. Das Homogenat wurde in der auf 4° C vorgekühlten Zentrifuge bei 10.000 g 10 Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wurde zur Bestimmung der Enzymaktivitäten bei 0° C maximal bis 8 Stunden aufbewahrt.

2. Leberzellhomogenat zur G-6-Pase-Bestimmung:

Bei der Herstellung des Extraktes zur G-6-Pase-Bestimmung wurden pro Gramm Leberfrischgewicht 10 ccm Phosphatpuffer (0,06 mol. Trappuffer, der 0,005 m EDTA enthielt), hinzugegeben. Die Zerkleinerung des Gewebes erfolgte in oben beschriebener Weise.

3. Durchführung der Glycogen-Bestimmungen:

Zur Glycogen-Bestimmung nach Good et al. (17) wurde das Gewebe im Frier-Stop-Verfahren mit Hilfe von flüssigem Sauerstoff entnommen. Anschließend wurden etwa 100 mg Leberfrischgewebe in 2 ml einer auf 100° C erhitzten 30 %igen KOH-Lösung gegeben. Unter ständigem Rühren löste sich das Gewebe auf und wurde 30 Minuten in heißem Wasserbad gehalten. Nach dieser Zeit wurden 5 Tropfen einer 10 %igen ZnSO<sub>4</sub>-Lösung zu dem noch heißen Homogenat gegeben, das Glycogen

mit 5 ml Äthylalkohol gefällt und etwa 1 Stunde im Kühlschrank aufbewahrt. Nach Abkühlung wurde die Suspension bei 10.000 g 10 Minuten lang zentrifugiert, der Rückstand mit 1 ml Ag.bidest sowie 5 ml Äthylalkohol gelöst und erneut zentrifugiert.

Dieser Vorgang wurde zweimal wiederholt. Zur Hydrolyse wurde das ausgewaschene Glycogen anschließend mit 2 ml 2 n  $H_2SO_4$ -Lsg. im Wasserbad 90 Minuten lang gekocht. Nach dieser Zeit erfolgte die Neutralisation mit 2 ml 2 n Natriumbicarbonatlösung gegen Methylorange. Jetzt wurde mit Ag.bidest auf 10,0 ml aufgefüllt und der Umrechnungsfaktor bestimmt.

4. Bestimmung der Enzymaktivitäten mit Hilfe des optischen Tests:

Die gemessenen Enzymaktivitäten wurden mit den enzymatisch-optischen Tests nach O. Warburg (62) bestimmt.

A.) Bestimmung der Lactat-Dehydrogenase (LDH):

Prinzip der Methode:



Die Aktivitätsbestimmung beruht auf der Messung der NADH-Oxidation (37).

### Ausführung:

Testzusammensetzung (11):

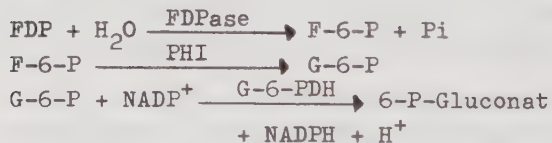
TRAP: 50 mM  
EDTA: 5 mM  
NADH: 0,22 mM pH: 7,6  
Pyruvat: 2,4 mM t: 25° C

Nach Zugabe von 10  $\mu$ l (20  $\mu$ l) das 1 : 100 verdünnten Gewebeextraktes wurde mit Pyruvat gestartet.

Messung bei 340  $\mu$ m, d = 1 cm  
t = 25° C

### B.) Bestimmung der Fructose-1, 6-diphosphatase:

Prinzip der Methode:



### Ausführung:

Testzusammensetzung nach Bücher et al. (4):

TRAP: 50 mM  
EDTA: 5 mM  
NADP: 0,6 mM  
MgCl: 8 mM  
FDP: 0,25 mM  
G-6-PDH: 2 x 1,82 IE/ml Testvol.

PHI: 2 x 1,82 IE/ml Testvol.

pH = 7,6 t = 25° C

Nach Zugabe von 10  $\mu$ l (20  $\mu$ l) des unverdünnten Gewebeeextraktes wurde mit FDP gestartet.

Messung bei: 340  $\mu$ m, d = 1, t = 25° C

### C.) Bestimmung der G-6-P-Dehydrogenase (ZF):

Prinzip der Methode:



#### Ausführung:

Testzusammensetzung (11) modifiziert nach Kornberg und Horecker (35):

TRAP: 50 mM

EDTA: 5 mM

NADP: 0,3 mM

G-6-P: 2 mM

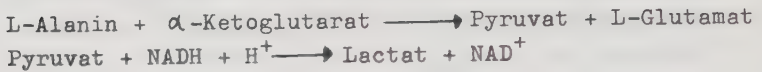
pH = 7,6 t = 25° C

Nach Zugabe von 20  $\mu$ l (40  $\mu$ l) des unverdünnten Extraktes wurde mit G-6-P gestartet.

Messung bei: 340  $\mu$ m, d = 1 cm, t = 25° C

D.) Bestimmung der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT):

Prinzip der Methode:



Ausführung:

Testzusammensetzung (11):

Kaliumphosphat-Puffer: 100 mM

EDTA: 5 mM

NADH: 0,22 mM

$\alpha$ -Ketoglutarat: 10 mM

L-Alanin: 10 mM

LDH: 0,4 x 1,82 IE/ml Testvol.

pH = 7,3                      t = 25° C

Nach Zugabe von 10  $\mu$ l (20  $\mu$ l) des unverdünnten Gewebeeextraktes wurde mit  $\alpha$ -KGS gestartet. Messung bei: 340  $\mu$ m, d = 1 cm, t = 25° C

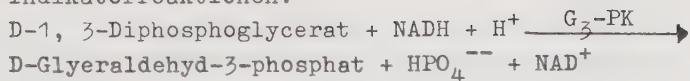
E.) Bestimmung der Glycerat-3-phosphat-Kinase (G<sub>3</sub>-PK):

Prinzip der Methode:



D-1-, 3-Diphosphoglycerat + ADP

Indikatorreaktionen:



Ausführung:

Testzusammensetzung (60):

TRAP: 50 mM  
EDTA: 5 mM  
MgSO<sub>4</sub>: 6,6 mM  
NADH: 0,22 mM  
GSH: 1,2 mM  
ATP: 1,5 mM  
3-PGS: 7,0 mM  
pH = 7,6    t = 25° C

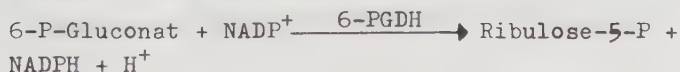
GAPDH: 0,5 x 1,82 IE/ml Testvol.

Nach Zugabe von 10 µl (20 µl) des 1 : 10 verdünnten Gewebeextraktes wurde mit 3-PGS gestartet.

Messung bei: 340 µm, d = 1 cm    t = 25° C

F.) Bestimmung der 6-Phospho-Gluconat-Dehydrogenase (6-PGDH):

Prinzip der Methode:



Ausführung:

Testzusammensetzung (11), modifiziert nach Horecker und Smyrniotis (24):

TRAP: 50 mM  
EDTA: 5 mM  
 $\text{MgSO}_4$ : 8,0 mM  
NADP: 0,4 mM  
6-PGS: 1,0 mM  
pH = 7,6      t = 25° C

Nach Zugabe von 20  $\mu\text{l}$  (40  $\mu\text{l}$ ) des unverdünnten Extraktes wurde mit 6-PGS gestartet.

Messung bei 340  $\mu\text{m}$ , d = 1 cm      t = 25° C

G.) Bestimmung der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)

Prinzip der Methode:



L-Glutamat + Oxalacetat



Ausführung:

Gemessen wurde in 0,1 m Phosphat-Puffer, um die Aktivität der Glu-DH möglichst gering zu halten.

Testzusammensetzung (11):

Kaliumphosphat-Puffer: 100 mM  
NADH: 0,15 mM  
Aspartat: 10 mM  
 $\alpha$ -KGS: 10 mM  
pH = 7,3                      t = 25° C

Nach Zugabe von 10  $\mu$ l (20  $\mu$ l) des 1 : 10 verdünnten Gewebeextraktes wurde mit  $\alpha$ -KGS gestartet:

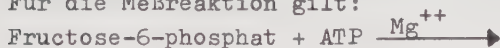
Messung bei: 340  $\mu$ m, d = 1 cm      t = 25° C

H.) Bestimmung der Fructose-6-Phosphat-Kinase (F-6-PK):

Zum Prinzip der Methode:

Bei dem von Racker (46) angegebenen Test laufen vier hintereinandergeschaltete Reaktionen ab.

Für die Meßreaktion gilt:



Fructose-1, 6-diphosphat + ADP

Ausführung:

Testzusammensetzung (60)

TRAP: 50 mM  
EDTA: 5 mM  
MgSO<sub>4</sub>: 8 mM  
NADH: 0,22 mM  
ATP: 1,5 mM  
GSH: 1,2 mM  
F-6-P: 1,6 mM

Ald.: 0,4 x 1,82 IE/ml Testvol.

TiM: 0,8 x 1,82 IE/ml Testvol.

GDH: 1,2 x 1,82 IE/ml Testvol.

pH = 7,6    t = 25° C

Nach Zugabe von 20  $\mu$ l (40  $\mu$ l) des unverdünnten Extraktes wurde mit F-6-P gestartet.

Messung bei: 340  $\mu$ m, d = 1 cm    t = 25° C

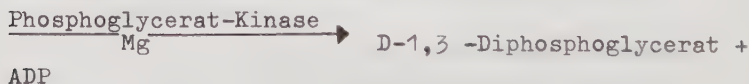
# I.) Bestimmung der Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH):

Prinzip der Methode:

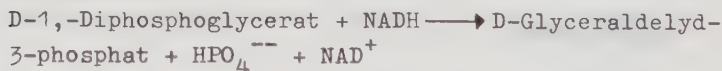
"Rück-Test" nach Bücher und Mitarbeitern (3,11):

Hilfsreaktion:

D-3-Phosphoglycerat + ATP



Meßreaktion:



## Ausführung:

Testzusammensetzung:

TRAP:            50 mM

EDTA:            5 mM

MgSO<sub>4</sub>:          3,3 mM

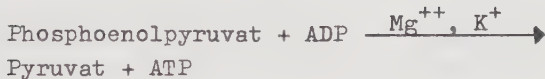
GSH: 2,4 mM  
NADH: 0,22 mM  
3-PGS: 7 mM  
PGK: 2 x 1,82 IE/ml Testvol.  
pH = 7,6 t = 25° C

Nach Zugabe von 10  $\mu$ l (20  $\mu$ l) des 1 : 5 verdünnten Extraktes wurde mit 3-PGS gestartet.

Messung bei: 340  $\mu$ m, d = 1 cm, t = 25° C

K.) Bestimmung der Pyruvat-Kinase (PK):

Prinzip der Methode:



Ausführung:

Testzusammensetzung:

TRAP: 50 mM  
EDTA: 5 mM  
MgSO<sub>4</sub>: 8 mM  
KCl: 75 mM  
NADH: 0,22mM  
ADP: 1,5 mM  
PEP: 0,8 mM  
LDH: 0,4 x 1,82 IE/ml Testvol.  
pH = 7,6 t = 25° C

Nach Zugabe von 10  $\mu$ l (20  $\mu$ l) des unverdünnten Extraktes wurde mit PEP gestartet.

Messung bei:  $340 \mu\text{m}$ ,  $t = 25^\circ \text{C}$        $d = 1 \text{ cm}$

#### L.) Bestimmung des Glycogens:

Prinzip der Methode:

Das Glycogen wurde nach oben beschriebener Vorbereitung des Extraktes nach Good et al. (17) enzymatisch als Glukose bestimmt:

#### Ausführung:

Testzusammensetzung:

TRAP:      50 mM

NADP:      0,5 mM

MgCl:      0,5 mM

ATP:      3,0 mM

G-6-PDH: 0,4 x 1,82 IE/ml Testvol.

HK: 1,6 x 1,82 IE/ml Testvol.

#### M.) Proteinbestimmung nach Lowry (40):

Verschiedene Proteinmengen von 5-100  $\mu\text{g}$ , außerdem die zu bestimmenden Proben, werden in 0,2 ml Ag. dest. aufgenommen und mit 1 ml Lösung aus 50 ml 2 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in NaOH und 1 ml 0,5 %  $\text{CuSO}_4$  in 1 % Na-tartrat versetzt. 10' bei Zimmertemperatur stehen lassen, dann 0,1 ml Folin hinzufügen. Nach 30' Absorption bei  $750 \text{ m}\mu$  messen. Das ist die Originalmethode.

Unser Ansatz: bekannte und unbekannte Proteinmengen in 0,5 ml Aq. dest. aufnehmen, dazu 2,5 ml Lösung C/ 30' Zimmertemperatur, plus 0,25 ml Reagenz sofort gründlich vermischen. Reaktion beginnt unmittelbar nach Zugabe, ablesen nach 30' Zimmertemperatur bei  $660\text{ m}\mu$ .

Lösungen:

A: 2 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in 0,1 n NaOH (Lowry-Lösung)

B: 0,5 %  $\text{CuSO}_4$  + 5  $\text{H}_2\text{O}$  in 1 % Natartrat

C: 50 ml A + 1 ml B (nach 1 Tag verworfen)

Folins-Reagenz:

Es ist mit NaOH (Konz.) auf pH6 zu titrieren, anschließend wird es 1 : 1 verdünnt.

### III. E R G E B N I S S E

#### 1. Zusammenfassende Darstellung aller Meßergebnisse

Die in den einzelnen Versuchsreihen gemessenen Enzymaktivitäten stellen Werte eines Kollektivs von 4 - 6 Ratten dar, die aus einer Schwangerschaft stammen. Um eine lineare Beziehung zwischen der Prä- und Postnatalperiode zu erreichen, wurden die Scheitel-Steiß-Längen der Feten nach Gonzales (16) in<sup>a</sup> Gestationstage umgerechnet. Die Tabellen geben einen Überblick über die aufgestellten Meßergebnisse, wobei die gemessenen Enzymaktivitäten in Abhängigkeit vom Alter der Versuchstiere zusammengestellt wurden. Zur Veranschaulichung der gefundenen Meßwerte wurden die tabellarisch aufgeführten Ergebnisse graphisch dargestellt. Es wurden jeweils bis zu 5 Versuchsergebnisse zu einem Mittelwert mit den entsprechenden Mittelwertabweichungen zusammengefaßt. Die Darstellung der aufgezeigten Ergebnisse erfolgte unter Berücksichtigung der Zugehörigkeit der einzelnen Enzymgruppen zu ihren Stoffwechselfunktionen.

Die als Vertreter des Pentosephosphatzyklus untersuchten Enzyme G-6-PDH und 6-PGDH zeigten während der Fetalentwicklung unterschiedliche Aktivitätsverläufe. Während die G-6-PDH (Abb. 2) bereits am 17. Gestationstag eine gering erhöhte Aktivität gegenüber dem nicht schwangeren erwachsenen Tier aufwies, lag die 6-PGDH (Abb. 3) mit ihrem gefundenen Meßwert zu diesem Zeitpunkt signifikant unter dem Mittelwert der ausgewachsenen Wistar-Ratte. Diese erhöhte Enzym-Aktivität der G-6-PDH gegenüber dem Erwachsenenwert



Abb. 2: Entwicklung der G-6-PDH

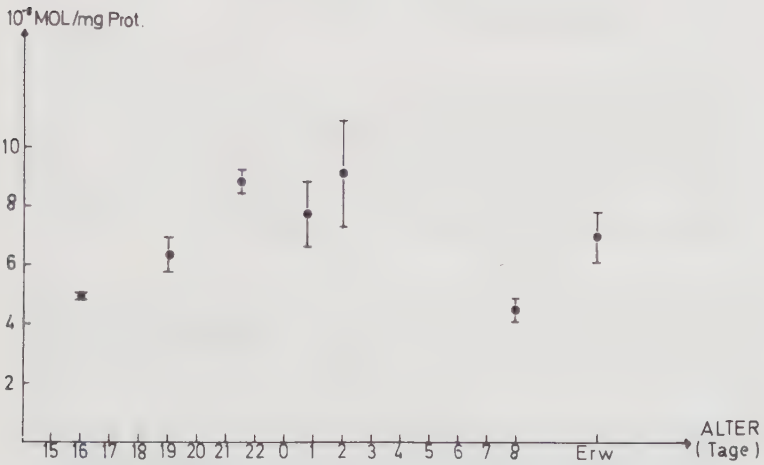


Abb. 3: Entwicklung der 6-PGDH

blieb bis zum 8. Tag p.p. annähernd linear bestehen, wobei die Streuung der Meßergebnisse nach der Geburt deutlich zunahm. Demgegenüber zeigte die 6-PGDH einen Aktivitätsgipfel am 2. Tag nach der Geburt, fiel jedoch bis zum 8. Lebenstag etwa auf die Hälfte dieses Maximalwertes ab.

Als Enzyme des Embden-Meyerhoff-Zyklus wurden die F-6-PK (Abb. 4), GAPDH (Abb. 5), FDPase (Abb. 6), Pk (Abb. 7), LDH (Abb. 8) und G-3-Pk (Abb. 9) untersucht. Dabei wiesen die F-6-PK, GAPDH und G-3-PK ähnliche Entwicklungsverläufe auf. Diese 3 Enzyme lagen um den 17. Gestationstag mit ihren Aktivitäten deutlich unter dem Wert, der bei der erwachsenen Ratte gemessen wurde. F-6-PK und G-3-PK stiegen bis zum 2. Lebenstag gering über den Bezugswert des erwachsenen Tieres an, während die GAPDH ihren Aktivitätsgipfel bereits um die Geburt erreicht hatte. Am 8. Tag p.p. lagen die Meßergebnisse dieser 3 Enzyme unter dem Erwachsenenwert.

Demgegenüber fanden wir bei der PK bis zur Geburt einen annähernd gleich hohen Aktivitätsverlauf. Die gefundenen Meßwerte fielen bis zum 8. p.p. Tag um etwa 40 % ab und entsprachen jetzt der bei der erwachsenen Ratte gemessenen Enzymaktivität.

Durch ein anderes Enzymmuster zeichneten sich die FDPase und die LDH aus. Bis zum 20. Gestationstag war die sehr niedrige FDPase-Aktivität eben gerade meßbar, die der LDH betrug zu diesem Zeitpunkt 25 % vom Ausgangswert des erwachsenen Tieres. Bei dem danach folgenden steilen Anstieg hatten beide Enzyme am 8. Tag p.p. ihren Aktivitätsgipfel erreicht. Die Meßwerte lagen jetzt 50 % über den Vergleichswerten des

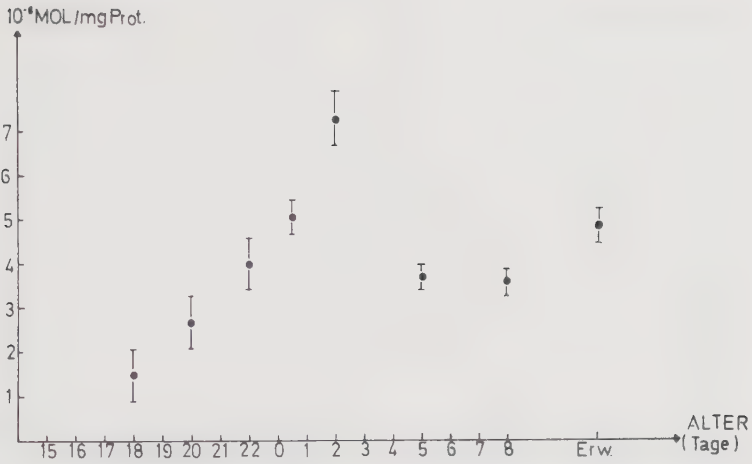


Abb. 4: Entwicklung der F - 6 - PK

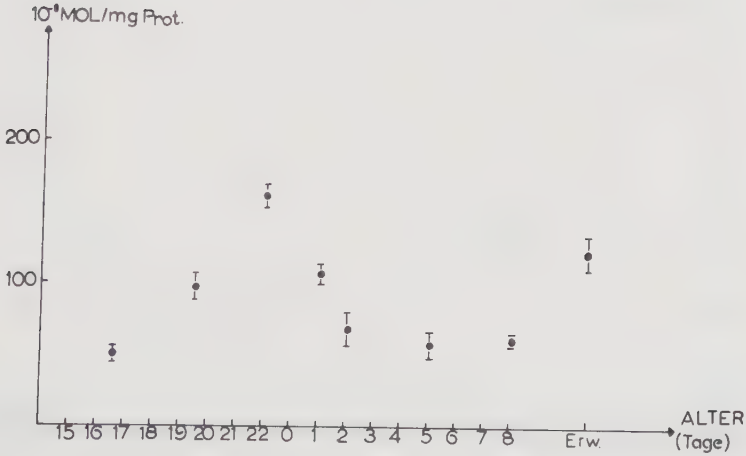


Abb. 5: Entwicklung der GAPDH

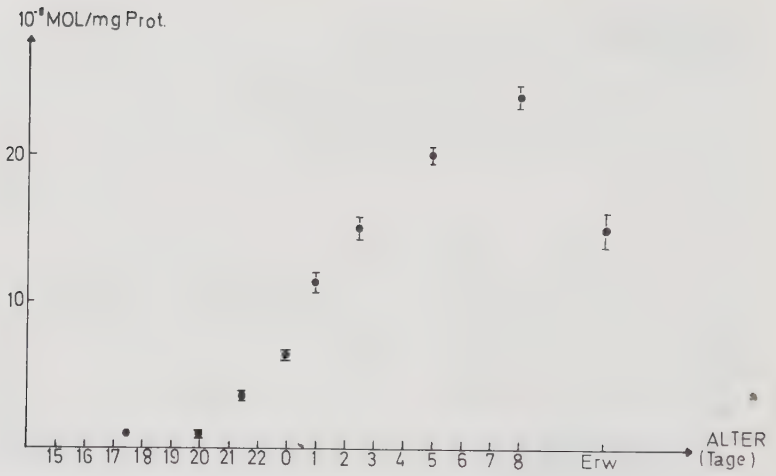


Abb. 6: Entwicklung der FDPase

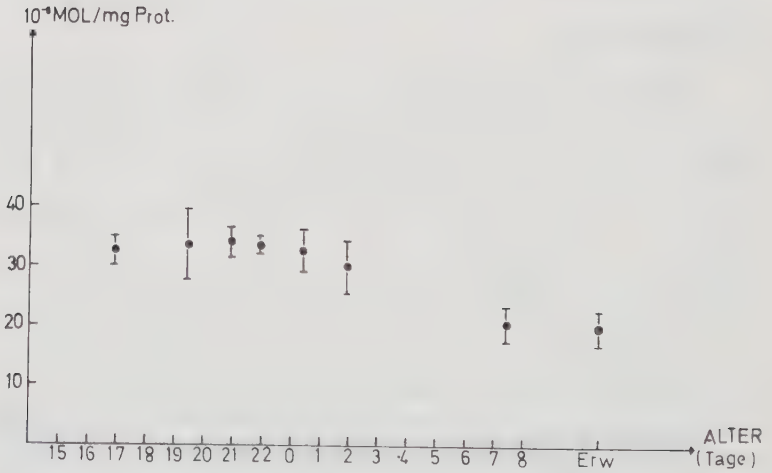


Abb. 7: Entwicklung der PK

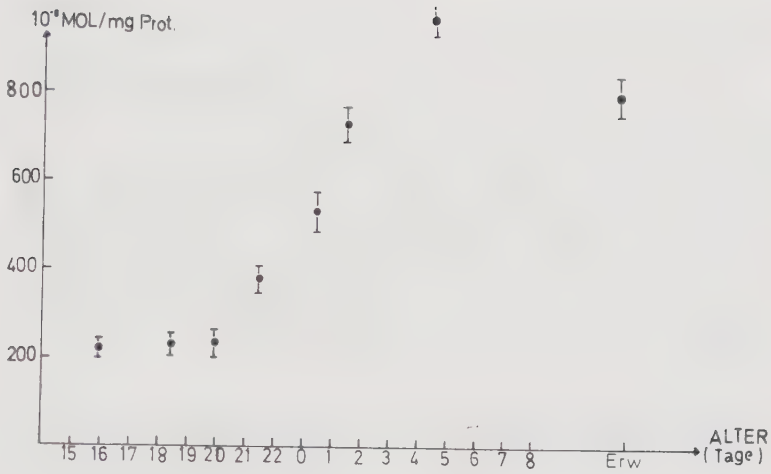


Abb. 8: Entwicklung der LDH

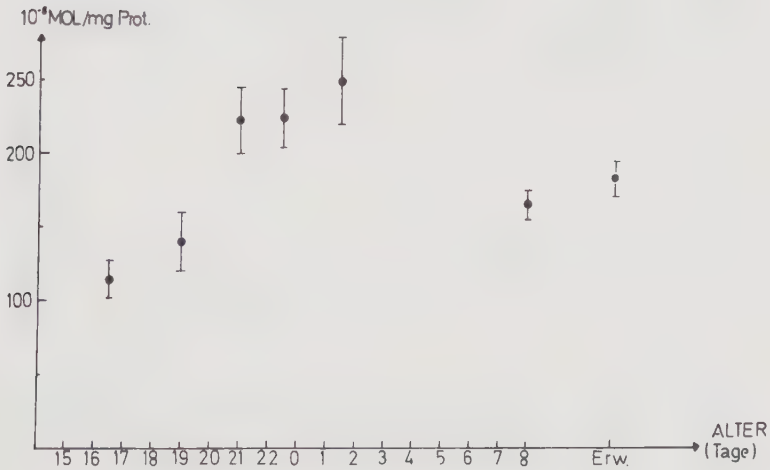


Abb. 9: Entwicklung der G-3-PK

erwachsenen Ratte.

Für die an der Gluconeogenese aus Aminosäuren beteiligten Enzyme GPT, GOT und LDH (Abb. 10, 11, 12) wurden folgende Aktivitätsmuster gefunden: nach einem zunächst allmählichen Anstieg vom 16. bis zum 20. Gestationstag, kam es anschließend zu einer starken Aktivitätszunahme mit dem Gipfel um den 1. Lebenstag. Bis zum 8. Tag p. p. waren diese Enzymwerte wieder auf den Vergleichswert des erwachsenen Tieres abgesunken.

Für die G-6-Pase (Abb. 13), ein Enzym für den Glycogenabbau, konnten bis zum 21. Gestationstag nur sehr geringe Aktivitäten gemessen werden. In der darauffolgenden Phase kam es zu einem steilen Anstieg mit einem Aktivitätsgipfel um den 4. p. p. Tag, wobei Werte gemessen wurden, die etwa 150 % über dem Erwachsenengipfel lagen. Am 8. Lebenstag war die G-6-Pase-Aktivität wieder auf den Vergleichswert der erwachsenen Ratte abgesunken.

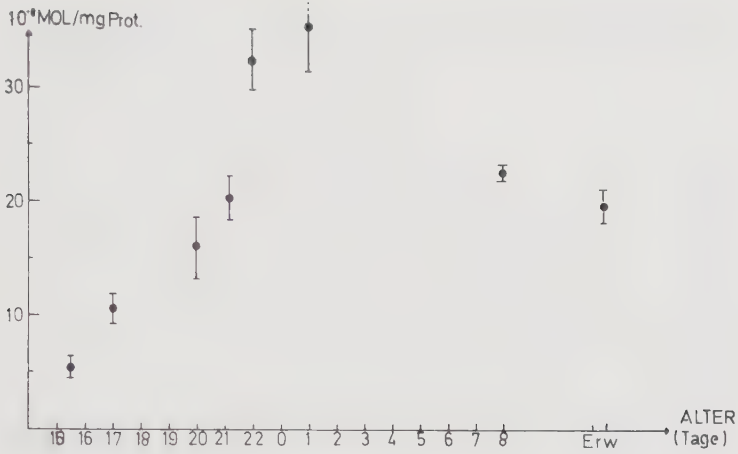


Abb. 10: Entwicklung der GPT



Abb. 11: Entwicklung der GOT

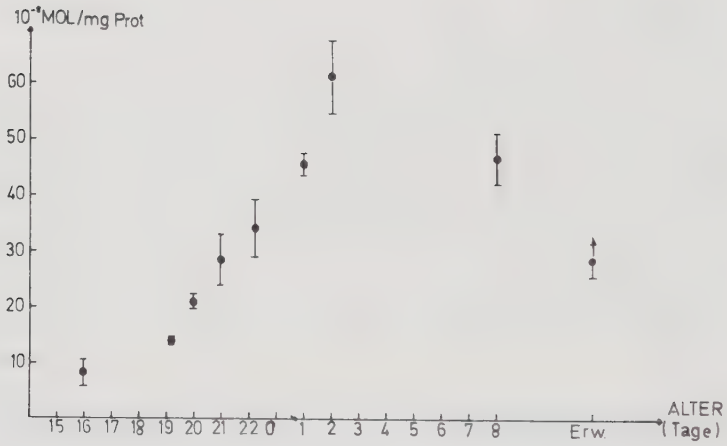


Abb. 12: Entwicklung der GluDH

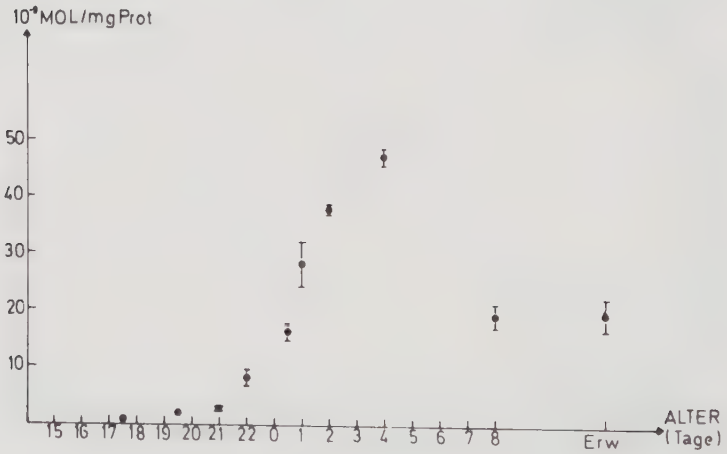


Abb. 13: Entwicklung der G-6-Pase

2. Einteilung der Ergebnisse in drei verschiedene Enzymgruppen:

Ein Vergleich der Ergebnisse zeigte, daß die gemessenen Enzymmuster in 3 voneinander verschiedene Entwicklungstypen eingeteilt werden können, die eine für sich charakteristische Verlaufsform zeigen. In Abb. 14 a-c wurden die 3 Typen schematisch dargestellt. Die Einteilung bezieht sich jedoch nur auf die Meßwerte bis zur Geburt, da die Aktivitätsgipfel der einzelnen Enzyme p.p. zum Teil zeitlich nicht übereinstimmen.

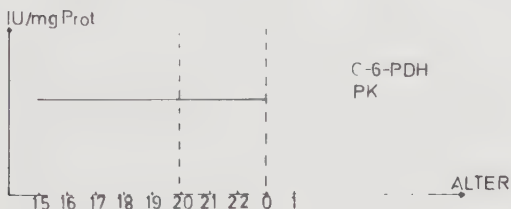
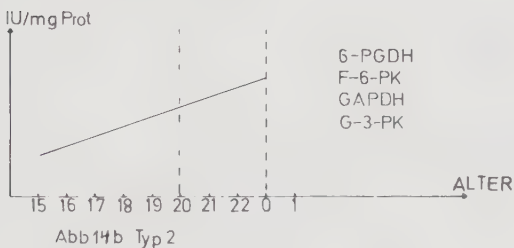
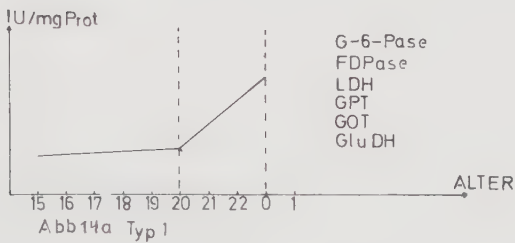


Abb. 14 a-c

Um die gleichsinnige Entwicklungstendenz dieser drei Enzymgruppen zu veranschaulichen, wurden die Aktivitäten in Abb. 15 - 17 prozentual angegeben. Als Bezugspunkte galten die entsprechenden Enzymwerte der erwachsenen Ratte, die gleich 100 % gesetzt wurden.

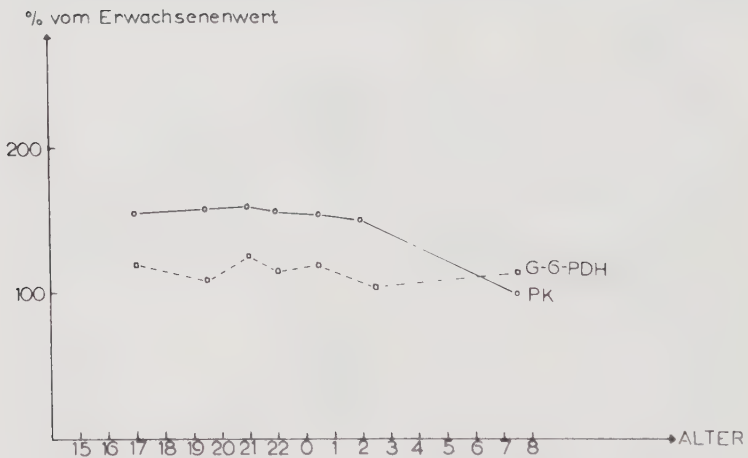


Abb. 15

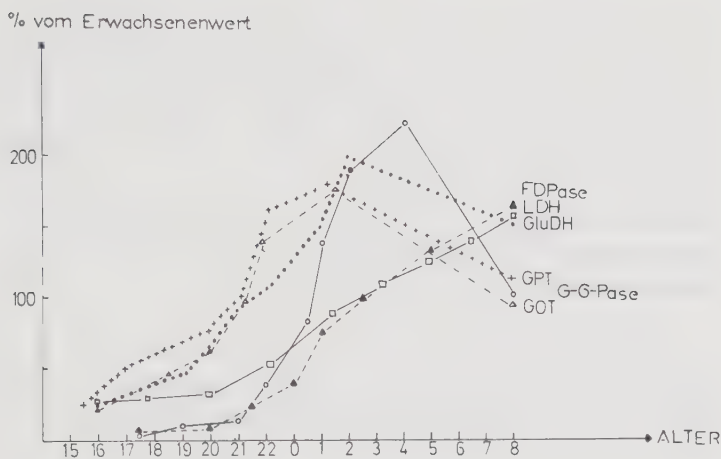


Abb. 16

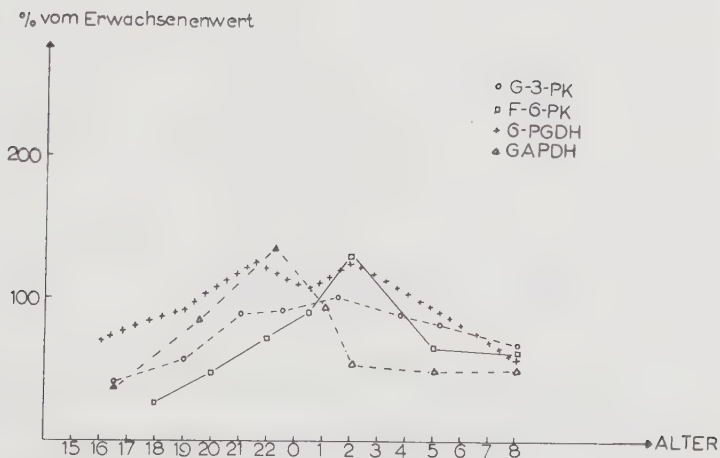


Abb. 17

- a) Abb. 16 zeigt die 6 Enzyme des Typ 1: FDPase, LDH, GluDH, GPT, GOT und G-6-Pase. Die Aktivitäten dieser Vertreter steigen bis zum 20. Gestationstag gering an, um danach mit deutlicher Geschwindigkeitszunahme ihren höchsten Wert zwischen dem 1. und 8. Tag nach der Geburt zu erreichen.  
Die graphische Darstellung (Abb. 16) veranschaulicht dieses charakteristische Verhalten des Entwicklungstypen 1.
- b) Dem Entwicklungstypen 2 (Abb. 17) konnten die G- $\beta$ -PK, F-6-PK, 6-PGDH und GAPDH zugerechnet werden. Diese vier Enzyme zeigten bis um die Geburt einen nahezu linearen Aktivitätsanstieg bis zu Werten um 100 Prozent: Am 8. Tag p.p. waren die Meßwerte wieder auf 60 bis 80 % abgesunken.
- c) In Abb. 15 wurden die Enzymaktivitäten des Typ 3, G-6-PDH und PK in der oben beschriebenen Weise graphisch dargestellt. Beide Enzyme zeichnen sich durch einen bis zur Geburt gleichbleibend hohen Aktivitätsverlauf aus, wobei die PK 50 Prozent, die G-6-PDH 20 Prozent über dem Vergleichswert liegt. Am 8. Lebens- tag entsprechen beide Enzymaktivitäten mit 100 Prozent dem Wert der erwachsenen Ratte.

Die Zusammenstellung der Ergebnisse erfolgte unter zwei verschiedenen Gesichtspunkten:

1. Darstellung der gemessenen Enzymaktivitäten unter Berücksichtigung der Zugehörigkeit zu den einzelnen Stoffwechselfunktionen.
2. Aufteilung der Meßergebnisse in 3 Entwicklungstypen.

Ein Vergleich der unterschiedlichen Darstellung der Meßergebnisse zeigt, daß die in den Abb. 15-17 zusammengestellten Aktivitätsmuster nach den 3 Entwicklungstypen (Abb. 14 a-c ) mit geringen Abweichungen gleiche Stoffwechselfunktionen vertreten. So gehören die untersuchten Enzyme des Embden-Meyerhoff-Abbaues F-6-PK, GAPDH, G-3-PK und PK mit Ausnahme der PK dem Entwicklungstypen 2 an; die Vertreter der Gluconeogenese GOT, GPT, Glu-DH und FDPase sind ausnahmslos dem Typen 1 zuzuordnen. Die beiden Enzyme des Pentose-Phosphatcyclus G-6-PDH und 6-PGDH gehören zu den Entwicklungstypen 3 und 1. Trotz dieser unterschiedlichen Typenzugehörigkeit weisen ihre Aktivitätskurven keinen großen Unterschied auf.

Übersicht aller Meßwerte

## Tab. I

Enzymaktivität ( $2 \times 10^{-8}$  Mol/mg Prot.)

| Alter (Tage) | 1    | 1    | 1    | 1    | 1,5  | 1,5  | 2    | 2    | 6    | 6    |
|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| LDH          | 840  | 816  | 840  | 640  | 880  | 720  | 366  | 280  |      | 362  |
| PK           | 41   | 38,8 | 47,2 | 42,8 | 34,6 | 37   | 36,4 | 16,4 | 24,2 | 24,3 |
| GAPDH        |      | 124  | 181  | 145  | 48,2 | 28,4 | 112  | 72,6 |      | 72   |
| G-3-PK       | 368  | 264  | 387  | 267  | 230  | 278  | 162  | 264  | 253  | 250  |
| F-6-PK       | 4,3  | 4,5  | 6,5  | 5,2  | 4,5  | 5    | 3,2  | 6,3  | 0,54 | 0,54 |
| FDPase       | 24   | 7,6  | 27,8 | 7,4  | 8,4  | 6,9  | 12   | 10,8 | 55   | 27,2 |
| 6-P-GDH      | 9    | 9,8  | 14,2 | 9    | 4,2  | 3,6  | 5,4  | 6,6  | 9    | 9,9  |
| G-6-PDH      | 8,8  | 6,9  | 8,2  | 7,1  | 6,3  | 6,6  | 5,8  | 3,9  | 9,6  | 8,2  |
| G-6-Pase     | 13,6 |      | 20,2 |      |      |      |      |      | 3,6  | 5,2  |
| Glu-DH       | 37,4 | 50   | 59   | 60   | 85,6 | 96   | 25,2 | 42,4 | 27,8 | 33,2 |
| GOT          | 236  | 222  | 240  | 226  | 236  | 242  | 104  | 114  | 139  | 144  |
| GPT          | 39   | 254  | 38,8 | 45   | 55,4 | 54   | 21,9 | 26,6 | 55   | 29,6 |

Tab. II

Enzymaktivität ( $2 \times 10^{-8}$  Mol/mg Prot.)

| Alter (Tage) | 15    | 15    | 18   | 19    | 19   | 22   | 25   | 26   | 26   | 29    | 29   | 30    | 30   |
|--------------|-------|-------|------|-------|------|------|------|------|------|-------|------|-------|------|
| IDH          | 230   | 276   | 300  | 218   | 238  | 240  | 121  | 290  | 240  |       |      | 306   | 303  |
| PK           | 37,2  | 40,0  | 68   | 38,6  | 35,2 | 51,0 | 34,8 | 37,4 | 32,6 | 48,4  | 50,2 | 46,2  | 51,6 |
| GAPDH        | 64,4  | 94,6  | 74   | 28,4  | 48,5 | 114  | 31,0 | 162  | 150  |       |      | 145,2 | 108  |
| G-3-PK       | 165   | 197   | 216  | 136   | 154  | 171  | 75,4 | 168  | 175  | 152,6 | 165  | 195   | 168  |
| F-6-PK       | 0,96  | 1,8   | 3,16 |       |      | 5,28 | 1,3  | 3,08 | 2,0  |       |      | 4,1   | 3,32 |
| FDP-ASE      | 0,030 | 0,042 | 0,9  | 0,606 | 0,06 | 1,5  | 0,36 | 3,0  | 1,5  | 1,5   | 1,81 | 0,72  | 1,81 |
| 6-P-GDH      | 5,5   | 6,0   | 8,8  | 6,32  | 6,6  | 8,4  | 4,0  | 6,6  | 4,86 | 8,7   | 8,1  | 8,2   | 9,2  |
| G-6-PDH      | 7,48  | 6,94  | 9,4  | 7,4   | 8,1  | 9,0  | 6,1  | 7,5  | 6,9  | 7,8   | 7,5  | 6,6   | 7,6  |
| G-6-Pase     | 1,56  | 1,56  | 1,5  | 0,96  | 1,58 |      |      | 3,8  | 4,54 |       |      | 2,46  |      |
| Glu-DH       | 6,6   | 9,6   | 9,0  | 23,2  | 21,2 | 15,0 | 8,1  | 20,4 | 19,5 | 18,4  | 16,5 | 27,2  | 30,8 |
| GOT          | 25,6  | 30,2  | 52,8 | 66    | 63,0 | 73,0 | 66,6 | 78,0 | 69,6 | 105   | 84   | 93,8  | 102  |
| GPT          | 11,9  | 13,9  | 11,4 | 16,0  | 14,8 | 11,4 | 7,6  | 9,6  | 6,6  | 15,0  | 15,6 | 23,0  | 23,7 |

Tab. III

Enzymaktivität ( $2 \times 10^{-8}$  Mol/mg Prot.)

| Alter (Tage) | 30   | 30   | 35   | 35   | 35   | 35   | 36   | 36    | 40   | 40   | 41    | 41    | 41   |
|--------------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|------|-------|-------|------|
| LDH          | 256  | 366  | 304  | 210  | 316  | 102  | 550  | 444   | 150  | 212  | 420   | 420   | 596  |
| PK           | 41,2 | 52,6 | 44,6 | 31   | 26,2 | 31   | 34   | 392   | 30,4 | 30,2 | 38    | 38    | 45,4 |
| GAPDH        | 87,8 | 132  | 132  | 73   | 108  | 56   | 130  | 100,5 | 36,6 | 42   | 117,4 | 117,4 | 165  |
| G-3-PK       | 194  | 200  | 242  | 135  | 181  | 139  | 220  | 210   | 192  | 226  | 216   | 216   | 227  |
| F-6-PK       | 4,2  | 5,0  | 7,4  | 4,0  | 4,9  | 4,0  | 4,0  | 5,0   | 2,8  | 2,6  | 3,2   | 3,2   | 4,0  |
| FDP-ASE      | 0,78 | 1,22 | 6,0  | 2,2  | 5,0  | 3,1  | 3,6  | 4,0   | 6,9  | 5,2  | 7,8   | 7,8   | 8,4  |
| 6-PGDH       | 7,52 | 9,3  | 7,8  | 6,0  | 7,2  | 5,1  | 8,7  | 10,0  | 8,4  | 6,8  | 9,2   | 9,2   | 9,6  |
| G-6-PDH      | 7,36 | 7,5  | 6,3  | 5,6  | 4,9  | 6,1  | 6,4  | 7,1   | 6,0  | 4,6  | 6,0   | 6,0   | 7,2  |
| G-6-Pase     | 6,0  |      | 2,0  |      | 2,5  |      | 3,4  | 7,9   |      |      | 8,0   | 8,0   | 15,0 |
| Glu-DH       | 27,6 | 27,2 | 30,2 | 24,8 | 30,2 | 24,8 | 27,2 | 33,0  | 22,6 | 18,0 | 33,2  | 33,2  | 30,2 |
| GOT          | 94,5 | 103  | 205  | 42,4 | 202  | 69   | 105  | 117   | 130  | 114  | 150,4 | 150,4 | 23,2 |
| GPT          | 19,6 | 29   | 25   | 8,6  | 17,0 | 8,0  | 16,5 | 18,8  | 21,2 | 18,8 | 23,2  | 23,2  | 23,2 |

### Diskussion der Ergebnisse:

Die Energie zur Entwicklung und zum Wachstum gewinnt der fetale Organismus vorwiegend aus der Verbrennung von Glukose: neben der Glukoseverwertung kommt es gegen Ende der Gestation zu einem steilen Anstieg des Glycogen (34, 47) in der fetalen Leber, welches in den ersten Tagen p.p. ebenso schnell wieder zur Energieversorgung des Neugeborenen herangezogen wird. Von untergeordneter Bedeutung für den fetalen Energiehaushalt sind die freien Fettsäuren (FFA) sowie Keton-Körper (48, 41). Erst unter der Geburt sowie p.p. erfolgt ein deutlicher Anstieg der Blutspiegel von FFA, Glycerol und Ketonkörpern (48), welcher durch Glukose-Infusionen unter der Geburt signifikant verringert werden kann.

Nach Untersuchungen von Sabata et al. (48) reicht die retinierte Menge an Glukose für den Fetus aus, um seinen eigenen Energiebedarf zu decken. Die Untersuchungen der verschiedenen Enzymaktivitäten des Glukosestoffwechsels während der fetalen Entwicklung erlauben nun einige Aufschlüsse über die Belastbarkeit und allmähliche Anpassung der Stoffwechselfunktionen an die starke postpartale Beanspruchung. Die unter optimalen Versuchsbedingungen gemessenen Aktivitäten gestatten jedoch nur eine vorsichtige Aussage über den jeweiligen Stoffumsatz.

Für die einzelnen Entwicklungsmuster der bestimmten Enzymaktivitäten könnte man annehmen, daß die zu einem Zyklus gehörenden Enzyme innerhalb bestimmter Grenzen einen ähnlichen Aktivitätsverlauf aufweisen. Die von dieser Überlegung unabhängig entwickelte Ty-

peneinteilung (Abb. 14) zeigt, daß die in den Abb. 15-17 zusammengestellten Aktivitätsmuster mit geringen Abweichungen gleiche Stoffwechselfunktionen vertreten. So sind die Enzyme des Embden-Meyerhoff-Abbaues mit Ausnahme der PK in dem Entwicklungstypen 2 (Abb. 14 b) zusammengefaßt.

Die für diese Gruppe charakteristische hohe Aktivität schon während der frühen Gestationsphase ist verständlich, wenn man bedenkt, daß der fetale Organismus zur Deckung des Energiehaushaltes weitgehend auf den Abbau der über den mütterlichen Kreislauf bereitgestellten Glukose angewiesen ist. Entsprechend der postpartal zunehmenden Bedeutung von Fetten für die Energiebereitstellung konnten wir einen allmählichen Abfall der Aktivitäten dieser Enzymgruppe während dieses Zeitraumes feststellen. Der gegenüber dem Verlaufstypen I fast gleichbleibend hohe Aktivitätsspiegel (Typ 3, Abb. 14 c) der PK könnte Ausdruck seiner Funktion als Schlüsselenzym sein, um nicht als limitierender Faktor zu wirken.

Durch einen von der oben beschriebenen Entwicklungsgruppe unterschiedlichen Aktivitätsverlauf zeichnet sich die LDH aus. Sie kann dem Entwicklungstypen 1 zugeordnet werden (Abb. 14 a).

Der Milchsäurespiegel des Feten sinkt vor der Geburt deutlich ab und erreicht in den ersten Lebensstunden als Exzess-Lactatspiegel (47) vorübergehend wieder höhere Werte. Da die Milchsäure in den letzten Gestationstagen vorwiegend wieder für die Glukoneogenese herangezogen wird, ist anzunehmen, daß die einzelnen Isoenzyme der LDH während der Entwicklung verschiedene Stoffwechselfunktionen beeinflussen. In

diesem Zusammenhang haben Flexner et al. (14) feststellen können, daß verschiedene fetale LDH-Isoenzyme in der erwachsenen Maus nicht mehr nachweisbar sind.

Während die Milchsäure kurz vor der Geburt weitgehend zur Glukoneogenese herangezogen wird, erreicht sie in den ersten Lebensstunden durch den forcierten Glyco-genabbau wieder hohe Werte. Bei Versuchen von Sabata et al. (49), den Energiehaushalt des menschlichen Feten durch Glukose-Infusionen der Mutter aufzubessern, stiegen die sauren Metaboliten deutlich an, wobei der Fet in eine bedrohliche Acidose geriet. Es wird angenommen, daß die physiologische Glukosebelastung des Feten bereits im Grenzbereich der Toleranz liegt (47).

Die untersuchten Enzyme der Glukoneogenese GOT, GPT, GluDH und FDPase entsprechen ausnahmslos wie in Abb. 16 dargestellt, dem Entwicklungstypen 1. Der sprunghafte Aktivitätsanstieg 3 Tage vor der Geburt zeigt deutlich, wie es gegen Ende der Gestation zu einer gesteigerten Glukoneogenese kommt, um die aufgebauten Glycogenreserven für die postpartale Energieversorgung bereitzustellen. Das gleichzeitig mitbestimmte Leberglycogen unterstreicht diese Aussage, indem die zum Zeitpunkt der Geburt auf etwa das dreifache des Erwachsenenwertes gemessenen Glycogenspeicher bereits am 4. Tag nach der Geburt bis auf einen niedrigen Wert aufgebraucht sind. Gleiche Ergebnisse wurden für alle anderen untersuchten Tierarten gefunden (55). Bei der Beurteilung der gefundenen Werte unterschied Nemeth (44) zwischen drei Phasen der Entwicklung:

- a) Fehlen von Glycogen bis wenige Tage vor dem Geburtstermin
- b) Glycogenspeicherung bis auf das 2-3fache des Erwachsenenenspiegels und
- c) Abfall des Glycogens bis unter den Normalwert für einige Tage nach der Geburt.

Entsprechend der Vorstellung, daß das gegen Ende der Gestation vermehrt aufgebaute und in der Leber gespeicherte Glycogen in den ersten postpartalen Tagen zur Energieversorgung des Neugeborenen herangezogen wird, zeigt die G-6-Pase einen typischen Entwicklungsverlauf. Die auf etwa 150 % des Erwachsenenenspiegels erhöhte Aktivität dieses Enzyms ist wohl notwendig, um die großen Glycogenreserven direkt bereitstellen zu können. Bereits 1952 stellten Cori et Cori (7) fest, daß bei der Glycogenspeicherkrankheit nur sehr geringe G-6-Pase-Aktivitäten nachweisbar waren.

Den nach dem 4. Lebenstag wieder abfallenden Meßwerten entspricht in analoger Weise der gleichzeitige Wiederanstieg des Glycogenspiegels. Während die Energieversorgung des Neugeborenen lediglich in den ersten Lebensstunden allein durch die Bereitstellung der Glycogenreserven gewährleistet ist, wird in zunehmendem Maße die aufgenommene Nahrung herangezogen. So ist zu verstehen, daß sich die G-6-Pase bereits wenige Tage p.p. mit ihrem Aktivitätsverlauf auf den Erwachsenenverlauf eingestellt hat.

Die Verwertung der Glukose über den Pentosephosphatzyklus spielt für die Energiegewinnung eine untergeordnete Rolle. Die eigentliche Bedeutung dieses Abbauweges liegt in der Bildung vieler Zwischenprodukte und des NADPH. Das für Synthesen notwendige

NADPH wird über diesen Zyklus bereitgestellt, während über die Glycolyse nur NADH entsteht.

Die beiden untersuchten Enzyme des Pentosephosphatzyklus G-6-PDH (Abb. 15) und 6-PGDH (Abb. 17) gehören zu den Entwicklungstypen 3 und 2. Trotz der verschiedenen Typenzugehörigkeit beider Enzyme weisen die gemessenen Aktivitäten jedoch keine wesentlichen Unterschiede in den Entwicklungsverläufen auf, so daß sich die gefundenen Muster in ihrer Beurteilung keinesfalls gegenseitig ausschließen. Die relativ hohen Aktivitäten beider Enzyme während der intra-uterinen Entwicklung des Tieres lassen sich wohl so erklären, daß die über diesen Zyklus entstehenden mannigfachen Zwischenprodukte für andere Synthesewege von entscheidender Bedeutung sind.

Neben den ausführlichen Enzymuntersuchungen sind für die weitere Aufklärung pränataler Stoffwechselbeziehungen eine Anzahl von weiteren Untersuchungen notwendig, um ein abgerundetes Bild zu erhalten. Insbesondere gilt dies für eine Reihe von unterschiedlichen Regulationsmechanismen, die steuernd in alle Stoffwechselsysteme eingreifen. Nicht zuletzt müssen die molekularen Entstehungswege der einzelnen Substanzen erforscht werden, um beispielsweise ursprüngliche Ursachen von Fehlregulationen beurteilen zu können.

In der abschließenden Zusammenstellung sollen einige dieser heute diskutierten Mechanismen kurz umrissen werden. Nach einem Vorschlag von Holzer (22) kann die intrazelluläre Stoffwechselreaktion in drei Mechanismen eingeteilt werden:

- 1.) Änderung der Konzentration eines Enzyms durch Repression oder Induktion der Enzymsynthese
- 2.) Änderung der Enzymaktivität durch Konkurrenz-  
hemmung
- 3.) Änderung der Stoffwechselintensität durch Konkurrenz von Enzymen um gemeinsame Coenzyme und Substrate.

Eine Interpretation dieser Mechanismen erschien in einer Übersichtsarbeit von Schröter (50): ad 1) Bei der Induktion von Enzymen können sowohl Substrate (25) als auch Hormone (39, 18, 19) wirksam sein. Für die Induktion durch Substrate haben Jacob und Monod (25) festgestellt, daß es sich dabei um die Aufhebung einer Hemmung der Enzymsynthese durch das Regulator-gen handelt. Während in den frühen fetalen Entwicklungsstadien die Gen-Aktivität der Frucht ausschließlich vom mütterlichen Gewebe beeinflußt wird, kommen mit zunehmender Ausdifferenzierung eigene neurale, hormonale und enzymatische Mechanismen des Embryos hinzu (50). Nach der Geburt ist das Neugeborene nur noch auf seine eigenen Regulationskreise angewiesen, wobei es zum Teil zu deutlichen Umformungen kommt, was sich in den gefundenen Ergebnissen widerspiegelt. Bei den sich langsam veränderlichen Enzymaktivitäten während der Entwicklung wird vermutet, daß es sich um Induktions- und Repressionsvorgänge handelt, welche über die Aktivitäten bestimmter Gene wirksam sind. Neben Induktion und Repression spielt die Abbaurate von Enzymen für ihre Konzentration eine wesentliche Rolle. ad 2) Bei der Änderung der Enzymaktivität durch Konkurrenzhemmung handelt es sich um einen Rückkopplungsmechanismus (25). Dabei kann das Endprodukt eines Syntheseweges Enzymaktivitäten verringern, wodurch es zu einer wirksamen Ausbalancierung der

einzelnen Stoffwechselleistungen kommt. Dieser auch als "allosterische Hemmung" (42) beschriebene Mechanismus wurde von Siperstein (56) an der Rattenleber für die Cholesterinsynthese nachgewiesen. Ebenso wird für die schnelle prä- und postnatale Aktivitätsänderung der Enzyme des Glycogenstoffwechsels der gleiche Regelkreis angenommen (34).

ad 3) Bei der enzymatischen Regulation konkurrieren die Enzyme um gemeinsame Coenzyme und Substrate (23, 51). Dadurch kann es zu einer Veränderung der Stoffwechselleistungen kommen. So ist zum Beispiel der aerobe Glukose-Abbau, bei dem pro Mol Glukose 38 Mol ATP gebildet werden, durch das Angebot an ADP und anorganischem Phosphat begrenzt, während über die anaerobe Glycolyse mehr Glukose verbraucht werden kann, da hierbei nur 2 Mol ATP gebildet werden. Solange aber der Föt oder das Neugeborene vorwiegend auf die anaerobe Glycolyse angewiesen sind, kann es, wie oben bereits angeführt, durch eine Laktat-Anhäufung zu einer starken Acidose kommen.

Die von uns dargestellten und diskutierten Ergebnisse decken sich überwiegend mit veröffentlichten Befunden anderer Arbeitsgruppen: Die Mehrzahl der veröffentlichten Untersuchungen betrafen bisher vorwiegend die Zusammenstellung von gemessenen Enzymaktivitäten aus dem fetalen Glukosestoffwechsel. Die ersten Untersuchungen der frühen Autoren, die sich mit diesem Thema beschäftigten, galten der Bestimmung der Glukose-6-phosphatase:

1952 stellten Cori et Cori (7) fest, daß bei der von Gierke'schen Erkrankung nur sehr geringe G-6-Pase-Aktivitäten vorhanden sind. 1954 veröffentlichte Nemeth (44) Untersuchungen über die G-6-Pase in der

Leber fetaler "Guinea-Pigs": bis zur Geburt konnten keine Aktivitäten gemessen werden, während es p.p. zu einem steilen Anstieg bis auf das Mehrfache des Erwachsenenwertes kam. Weiterhin berichteten Weber und Cantero (63, 64) sowie Dawkins (9) über die fetale Entwicklung der G-6-Pase in der Rattenleber: geringe Aktivitäten konnten ab dem 19. Gestationstag gemessen werden, die bis zum 4. Lebenstag auf mehr als das Doppelte des Erwachsenenwertes steil anstiegen.

Bei vergleichenden G-6-Pase-Untersuchungen an Ratten, Guinea-Pig, Kaninchen sowie menschlichen Feten fand Dawkins (10) für die Rattenfeten gleiche Werte. Über den Einfluß einer Glukose- bzw. Galaktosediat auf die Glukose-6-Pase sowie die Leber-Glukokinase bei Ratten berichteten Landau und Hastings (38). Bei den folgenden Arbeiten untersuchten die einzelnen Autoren unter verschiedenen Versuchsbedingungen eine Reihe von Enzymen des Glukose-Stoffwechsels während der prae- und postnatalen Entwicklung: 1963 veröffentlichten Purch et al. (5) eine Untersuchung über 13 verschiedene Enzyme des Glukose-Stoffwechsels an fetalen und neugeborenen Ratten. Dabei wurden u.a. die Aktivitätsänderungen von G-6-Pase, G-6-PDH, 6-PGDH, GAPDH und LDH bestimmt. Die gefundenen Meßergebnisse decken sich weitgehend mit den von uns aufgestellten Aktivitätsmustern. Jacquot et al. (26) ermittelten für die G-6-Pase und 6-PGDH an Rattenfeten ähnliche Werte. Bei der G-6-PDH Bestimmung an Kaninchenlebern fand Stave (57) entsprechend den Ratten-Feten einen postnatalen Abfall der Aktivität bis deutlich unter den Erwachsenenwert.

Die von Vernon et al. (59) gefundenen Aktivitätsmuster für die PK, G-6-PDH und 6-PGDH konnten von uns be-

stätigt werden. Bei vergleichenden Untersuchungen an Ratte, Hase, Schaf und "Guinea-Pig" stellten Sereni und Principi (54) fest, daß sowohl die G-6-Pase als auch die G-6-PDH während der Entwicklung des jeweiligen Versuchstieres einander entsprechende Entwicklungsverläufe aufweisen.

Über die Enzyme der Glukoneogenese bei Rattenfeten bzw. Neugeborenen berichteten u.a. Ballard et al. (2), Jeung et al. (28, 30) sowie Philippides und Ballard (45): In Übereinstimmung fanden die Autoren, daß die Mehrzahl dieser Enzyme erst kurz vor der Geburt meßbare Aktivitäten zeigten und post-partum steil anstiegen.

Lediglich die Phosphopyruvat-carboxylase war frühestens 1 1/2 Stunden p.p. meßbar. Da dieses Enzym als ein Schlüsselenzym der Glukoneogenese angesehen werden kann, muß man annehmen, daß der Glukoseaufbau bei Ratten erst nach der Geburt in meßbaren Dimensionen abläuft. Entsprechende Ergebnisse wurden von Jeung et al. (29) und Ballard et al. (1) gefunden. Im Gegensatz zur Ratte sind beim Hühnerembryo sämtliche Enzyme der Glukoneogenese meßbar (2). Über Untersuchungen von weiteren Enzymen des Glukosestoffwechsels während der Perinatalperiode berichteten Sydow (58), Walker (61) und Doell et al. (12):

Während die Aktivitäten von Hexokinase, Phosphofructokinase (58) sowie der  $\beta$ -Galaktasidase (12) bereits pränatal hohe Werte aufwiesen, war die der Glucokinase (61) erstmals am 16. Tag post partum meßbar. Gegenüber den Veröffentlichungen über die Enzymmuster des fetalen Glukosestoffwechsels liegen für die Stoffwechselsysteme der Aminosäuren während der Entwicklung relativ wenige Ergebnisse vor: Als Beispiele seien die Untersuchungen über Enzymaktivitäten des Phenyl-

alanin- und Tyrosinstoffwechsels bei fetalen Ratten angeführt; sowohl die Tyrosin-Transaminase, Phenylalanin-Hydroxylase (36) als auch die Tyrosin- $\alpha$ -Ketoglutarat-Transaminase (53) lagen mit ihren Aktivitäten vor der Geburt deutlich unter dem Erwachsenenwert.

In den letzten Jahren untersuchten verschiedene Autoren neben den perinatalen Enzymmustern zunehmend den Einfluß von einigen Hormonen auf die Entwicklung der einzelnen Enzyme. So veröffentlichte Olga Greengard (8, 18, 18, 20, 21) mehrere Untersuchungen über die Wirkung von Glucagon, Triamcinolon, Hydrocortison sowie Thyroxin auf die Enzymmuster während der Perinatalperiode.

Während durch Glucagon- bzw. Thyroxin-Injektion gegen Ende der Gestation ein deutlicher Anstieg der G-6-Pase beobachtet werden konnte (18, 19, 20), zeigte Hydrocortison pränatal keinen Effekt auf dieses Enzym. Zu einer Steigerung der Ornithin-Aminotransferase-Aktivität durch Triamcinolon-Injektion (21) kam es ausschließlich bei einige Tage alten Ratten, ein Effekt bei fetalen Ratten blieb jedoch aus. Durch Cortison-Injektion bei normalen Ratten (15) stieg das Leber-Glycogen innerhalb von 16 Stunden auf das Mehrfache des Ausgangswertes an. Die Wirkung des Cortison auf den Aminosäurenstoffwechsel wurde anhand der Aktivitätsänderung von Tyroxin-Aminotransferase sowie Tryptophanoxigenase (35) untersucht: mit Aminosäurezusatz kam es zu einem deutlichen Anstieg beider Enzyme nach Cortison-Injektion. Den Einfluß des Wachstumshormons auf verschiedene Stoffwechselsysteme untersuchten Collipp (6) und Jefferson (27): eine längere Anwendung von GH (über 6 Tage) bewirkte einen Abfall

der Aktivitäten von G-6-Pase und Pyrophosphatase (6), wogegen es zu einer signifikant vermehrten Eingliederung markierter Aminosäuren in das Leber-Protein kam (27). Zur weiteren Abklärung dieser Wirkungsweisen erarbeiteten u.a. Karlson (32), Sekeris (52) und Morel (43) einige biochemische Mechanismen der Hormonwirkung auf die Enzymsysteme: so konnten zum Beispiel durch Hormoneinwirkung die Synthese spezifischer Messenger-RNA-Moleküle (52) beobachtet werden. Als zum Teil noch hypothetische Mechanismen werden u.a. eine echte de-novo-Synthese, allosterische Hemmung, Gen-Aktivierung sowie Puff-Bildung vermutet.

V.

Z U S A M M E N F A S S U N G

In der vorliegenden Arbeit wurden die Aktivitäten von 12 verschiedenen Leberenzymen der Glykolyse und des Aminosäurenstoffwechsels bei unterschiedlich alten Rattenfeten sowie neugeborenen Ratten gemessen: GOT, GPT, LDH, GluDH, GAPDH, G-6-Pase, G-6-PDH, 6-PGDH, FDPase, F-6-PK, G- $\beta$ -PK und PK.

Die Aktivitäten der einzelnen Enzyme während der prae- und postnatalen Entwicklung zeigen einen jeweils typischen Verlauf. Die gefundenen Ergebnisse konnten zu 3 verschiedenen Enzymgruppen zusammengestellt werden:

1. Enzymgruppe ohne wesentliche Aktivitätsänderung in der Perinatalperiode: PK, G-6-PDH
2. Enzymgruppe mit steilem Aktivitätsanstieg vom 20. Gestationstag bis wenige Tage nach der Geburt: FDPase, LDH, GluDH, GPT, GOT, G-6-Pase
3. Enzymgruppe mit Aktivitätsgipfel zum Zeitpunkt der Geburt: G- $\beta$ -PK, F-6-PK, 6-PGDH, GAPDH.

Die zu einer Gruppe zusammengefaßten Enzyme können im wesentlichen jeweils einer Stoffwechselfunktion zugeordnet werden.

1. BALLARD, F.J., R. W. HANSON  
Phosphoenolpyruvate Carboxykinase and Pyruvate Carboxylase in Developing Rat Liver.  
Biochem. Journal, 104, 866 (1967)
2. BALLARD, F.J., J.T. OLIVER  
Glycogen Metabolism in Embryonic Chick and Neonatal Rat Liver.  
Biochem. Biophysics Acta, 71, 578 (1963)
3. BÜCHER, TH.  
Über ein phosphatübertragenes Gärungsferment  
Biochem. Biophys. Acta, 1, 292 (1947)
4. BÜCHER, TH., W. LUH u. D. PETTE  
Hoppe-Seyler-Thierfelder,  
Handbuch für Physiol. Chem. Analyse, 10. Aufl.  
Bd. VI A (1964)
5. BURCH, H.B., O.H. LOWRY, A.M. KUHLMANN, J. SHER-  
JANCE, E. J. DIAMANT, ST.R. LOWRY, P. v. DIPPE  
Changes in patterns of enzymes of Carbohydrate Metabolism in the Developing Rat Liver  
J. of Biol. Chem., 238, 7 (1963)
6. COLLIPP, P. J.  
Identity of Liver Glucose-6-Phosphatase and Inorganic Pyrophosphatase: Effects of Growth Hormone, Fasting and Aging  
Biochemistry and Biophysics, 118, 106 (1967)
7. CORI, G.T., C.F. CORI  
Glucose-6-phosphatase of the Liver in Glycogen Storage Disease  
J. of Biol. Chem., 199, 661 (1952)
8. CSANYI, V., O. GREENGARD and W. E. KNOX  
The Inductions of Tyrosine Aminotransferase by Glucagon and Hydrocortisone  
J. of Biol. Chem. 242, 2688 (1967)

9. DAWKINS, M.J.R.  
Autolytic Changes in Foetal Liver  
J. Path. Bact., 79, 289 (1960)
10. DAWKINS, M.J.R.  
Changes in Glucose-6-Phosphatase  
Activity in Liver and Kidney at Birth Nature,  
191, 72 (1961)
11. DELBRÜCK, A., E. ZEBE, T. BÜCHER  
Über Verteilungsmuster von Enzymen des energie-  
liefernden Stoffwechsels im Flugmuskel, Sprung-  
muskel und Fettkörper von Locusta migratoria und  
ihr cytologische Zuordnung  
B.Z., 331, 273 (1959)
12. DOELL, R.G. and N. KRETCHMER  
Studies of Small Intestine During Development  
I. Distribution and Activity of -Galactosidase  
Biochemica et Biophysica Acta (Amsterd.)  
62, 353 (1962)
13. FITCH, W.M., J.L. CHAIKOFF  
Extent and Patterns of Adaption of Enzyme  
Activities in Lives of Normal Rats Fed Diets  
High in Glucose and Fructose  
J. Biol. Chem., 235, 554 (1960)
14. FLEXNER, L.B., J. FLEXNER, R. ROBERTS,  
G. de la HABA  
Lactic Dehydrogenases of the Developing Cerebral  
Cortex and Liver of the Mous and Guinea Pig  
Develop. Biol. 2, 313 (1960)
15. FRIEDMANN, B., E.H. GOODMAN, J. a.S. WEINHOUSE  
Effects of Glucose Feeding, Cortisol and Insulin  
on Liver Glycogen Synthesis in the Rat  
Endocrinologie, 81, 486 (1967)
16. GONZALES, A. W.A.Y.  
Prenatal Growth of Albino Rat  
The Anatomical Record, 52 Nr. 2 (1932)

17. GOOD, C., KRAMER, M. SOMOGY  
The Determination of Glycogen  
J. Biol. Chem., 100, 485 (1933)
18. GREENGARD, O.  
The Hormonal Regulation of Enzyms in Prenatal  
and Postnatal Rat Liver  
Biochem. Journ. 115, 19 (1969)
19. GREENGARD, O., H.K. DEWEY  
Initiation by Glucagon of the Prenature Develop-  
ment of Tyroxine Aminotransferase, Serine Dehydra-  
tase and Glucose-6-Phosphatase in Fetal Rat Liver.  
The Journal of Biol. Chem., 242 Nr. 12, 2986  
(1967)
20. GREENGRAD, O., H.K. DEWEY  
The Developmental Formation of Liver Glucose-6-  
Phosphatase and Reduced Nicotinamide Adenine  
Dinucleotide Phosphate Dehydrogenase in Fetal  
Rats Treated with Thyrosine  
J. Biol. Chem. 343, 10, 2745 (1968)
21. HERZFELD, A. and O. GREENGARD  
Endocrine Modification of the Developmental For-  
mation of Ornithine Aminotransferase in Rat  
Tissues  
J. of Biol. Chemistry 244, 4894 (1969)
22. HOLZER, H.  
Intrazelluläre Regulation des Stoffwechsels  
Naturwissenschaften, Bd. 50, 260 (1963)
23. HOLZER, H.  
Symp. Quant. Biol. 26, 277 (1961)
24. HORECKER, B.L., Z. SMYRNIOTIS  
J. Biol. Chem. 193, 371 (1951)
25. JACOB, F., J. MONOD  
Genetic Regulatory Mechanism in the Synthesis  
of Proteins  
J. molec. Biol. 3, 318 (1961)

- 26.) JACQUOT, R.L., N. KRETCHMER, K.K. TSUBOI,  
J. C. TAYLOR, H. Mc. NAMARA  
Glycogen Metabolism in Fetal Liver  
Amer. J. Dis. CHILD. 102, 476 (1961)
- 27.) JEFFERSON, L.S. and A. KORNER  
A Direct Effect of Growth HORMONE on the Incorporation of Precursors into Proteins and Nucleic Acids of Perfused Rat Liver  
Biochem. J. 104, 826 (1967)
- 28.) JEUNG, D. and J. T. OLIVER  
Development of Gluconeogenesis in Neonatal Rat Liver  
Biochem. Journal 105, 1229 (1967)
- 29.) JEUNG, D., and J. T. OLIVER  
Inductions of Phosphopyruvate Carboxylase in Neonatal Rat Liver by Adenosine 3', 5-Cyclic-monophosphate  
Biochemistry 7, 3231 (1968)
- 30.) JEUNG, D., R.S. STANLEY and J. T. OLIVER  
Development of Gluconeogenesis in Neonatal Rat Liver (Effect of Triamcinolone)  
Biochem. J. 105, 1219 (1967)
- 31.) KARLSON, P.  
Kurzes Lehrbuch d. Biochemie (1967)
- 32.) KARLSON, P. u. C.E. SEKERIS  
Biochemical Mechanism of Hormone Action  
Acta Endocrinologica 53, 505 (1966)
- 33.) KNOX, W.E. and C. SHARMA  
Enzyme Induction in Perfused Rat Liver by Glucagon and other Agents  
Enzym. Biol. Clin. 9, 21 (1968)
- 34.) KORNFELD, R., D.H. BROWN  
The Activity of Some Enzymes of Glycogen Metabolism in Fetal and Neonatal Guinea Pig Liver  
J. Biol. Chem. 238, 1604 (1964)

- 35.) KORNBERG, A., B. L. HORECKER  
Colowick-Kaplan, Meth. in Enzymol. Bd. 1, S. 323
- 36.) KRETCHMER, N.  
Enzymatic Patterns During Development  
Pediatrics 23, 606 (1959)
- 37.) KUBOWITZ, F. and P. OTT  
B.Z. 314, 94 (1943)
- 38.) LANDAU, B.R., A.B. HASTINGS, S.M. ZOTTN  
Studies on Carbohydrate Metabolism in Liver  
Slices  
J. Biol. Chem. 233, 1257 (1958)
- 39.) LIN, E.C.C., B.M. PITT, M. CIVEN, W.E. KNOX  
The assay of aromatic amino acid transeminations  
and keto acid oxidation by the enol borate-  
tantomerase method.  
J. Biol. Chem. 233, 668 (1958)
- 40.) LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, A. L. FARR,  
R.J. RANDALL  
J. Biol. Chem. 193, 255 (1951)
- 41.) MELICHAR, V., M. NOVAK, P. HAHN, O. KOLDOVSKY  
Free Fatty Acids and Glucose in the Blood of  
Various Groups of Newborns Preliminary Report  
Acta Paediatr. 53, 343 (1964)
- 42.) MONOD, J., J.-P. CHANGEUX, F. JACOB  
Allosteric proteins and cellular control systems  
J. molec. Biol. 6, 306 (1963)
- 43.) MOREL, F.  
Zyklisches Adenosinmonophosphat als intrazellu-  
lärer Vermittler vieler Hormonwirkungen  
Triangel 9, 4 (1970)
- 44.) NEMETH, A.M.,  
Glucose-6-Phosphatase in the Liver of the Fetal  
Guinea Pig  
J. Biol. Chem. 208, 773 (1954)

45. PHILIPPIDES, H., F.J. BALLARD  
The Development of Gluconeogenesis in Rat Liver  
Biochem. Journal 113, 651 (1969)
46. RACKER, E.  
Spectrometric Measurement of Hexokinase and  
Phosphohexokinase Activity  
J. Biol. Chem. 167, 843 (1947)
47. SABATA, V., S. LAUSMANN, H. WOLF  
Materno-fetale Stoffwechselbeziehungen  
Stoffwechsel des Neugeborenen  
Hippokrates Verlag (1970)
48. SABATA, V., H. WOLF, S. LAUSMANN  
The Role of Free Fatty Acids, Glycerol, Ketone  
Bodies and Glucose in the Energy Metabolism  
of the Mother and Fetus during Delivery  
Biol. Neonat. 13, 7 (1968)
49. SABATA, V., K. ZNAMENACCK, H. PRIBYLOVA, V.  
MELICHAR  
Excerpta Medica Foundation Amsterdam (1967)
50. SCHRÖTER, W.  
Grundlagen der intrazellulären Stoffwechselre-  
gulation in der Perinatalperiode  
Mschr. Kinderheilkunde 116. Bd. Heft 5 (1968)
51. SCHRÖTER, W.  
Mechanismus der Stoffwechselkontrolle in der  
Neugeborenenperiode  
Stoffwechsel der Neugeborenen  
Hippokrates Verlag 254 (1970)
52. SEKERIS, C.E.  
Wirkung der Hormone auf den Zellkern (1967)  
Physiol.-Chem. Institut der Univ. Marburg
53. SERENI, F., F.T. KENNEY and N. KRETCHMER  
Factors Influencing the Development of Tyrosine-  
-Ketoglutarate Transaminase Activity in Rat  
Liver  
J. Biol. Chem. 234, 609 (1959)

- 54.) SERENI, F., N. PRINCIPI  
The Development of Enzyme Systems  
The Pediatr. Clin. N. Americ. 12, 515 (1965)
- 55.) SHELLEY, H.J.  
BRIT. MED. BULL. 17, 137 (1961)
- 56.) SIPERSTEIN, M.D., V.M. FAGAN  
Studies on the Feed-Back Regulation of  
Cholesterol Synthesis  
Advanc. Enzyme Regulation 2, 249 (1964)
- 57.) STAVE, U.  
Glycolyse Enzyme in Leber, Niere und Serum  
während der ersten Lebenszeit  
Biol. Neonator. 2, 18 (1960)
- 58.) SYDOW, G.  
Hexokinase- und Phosphofructokinase  
Aktivität in Geweben der Ratte während der  
prae- und postnatalen Entwicklung  
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. Bd. 350, 263  
(1969)
- 59.) VERNON, R.G., D.G. WALKER  
Changes in Activity of some Enzyms Involved in  
Glucose Utilization and Formation in Developing  
Rat Liver  
Bioch. Journal 106, 321 (1968)
- 60.) VOGELL, W., F.R. BISHAI, T. BÜCHER, M. KLINGEN-  
BERG, D. PETTE, E. ZEBE  
Über strukturelle und enzymatische Muster in  
Muskeln von *Locusta migratoria*  
Biol. Z. 332, 81 (1959)
- 61.) WALKER, D.G. and G. HOLLAND  
The Development of Hepatic Glucokinase in the  
Neonatal Rat  
Bioch. Journ. 97, 845 (1965)

62.) WARBURG, G.O.

Chemische Konstitution von Fermenten  
Enzymforschung 7, 210 (1938)

63.) WEBER, G., A. CANTERO

Glucose-6-Phosphatase Aktivität in Regeneration  
Embryonischer und Neugeborenen Ratte Leber  
Cancer Research 15, 679 (1959)

64.) WEBER, G., A. CANTERO

Glucose-6-Phosphatase Utilization in Hepatoma  
Regeneration and Neugeborenen Ratte Leber und in der  
Leber von Fütterter und Fasteter Normalen Ratten  
Cancer Research 17, 995 (1957)

## VII. Verzeichnis der Abkürzungen

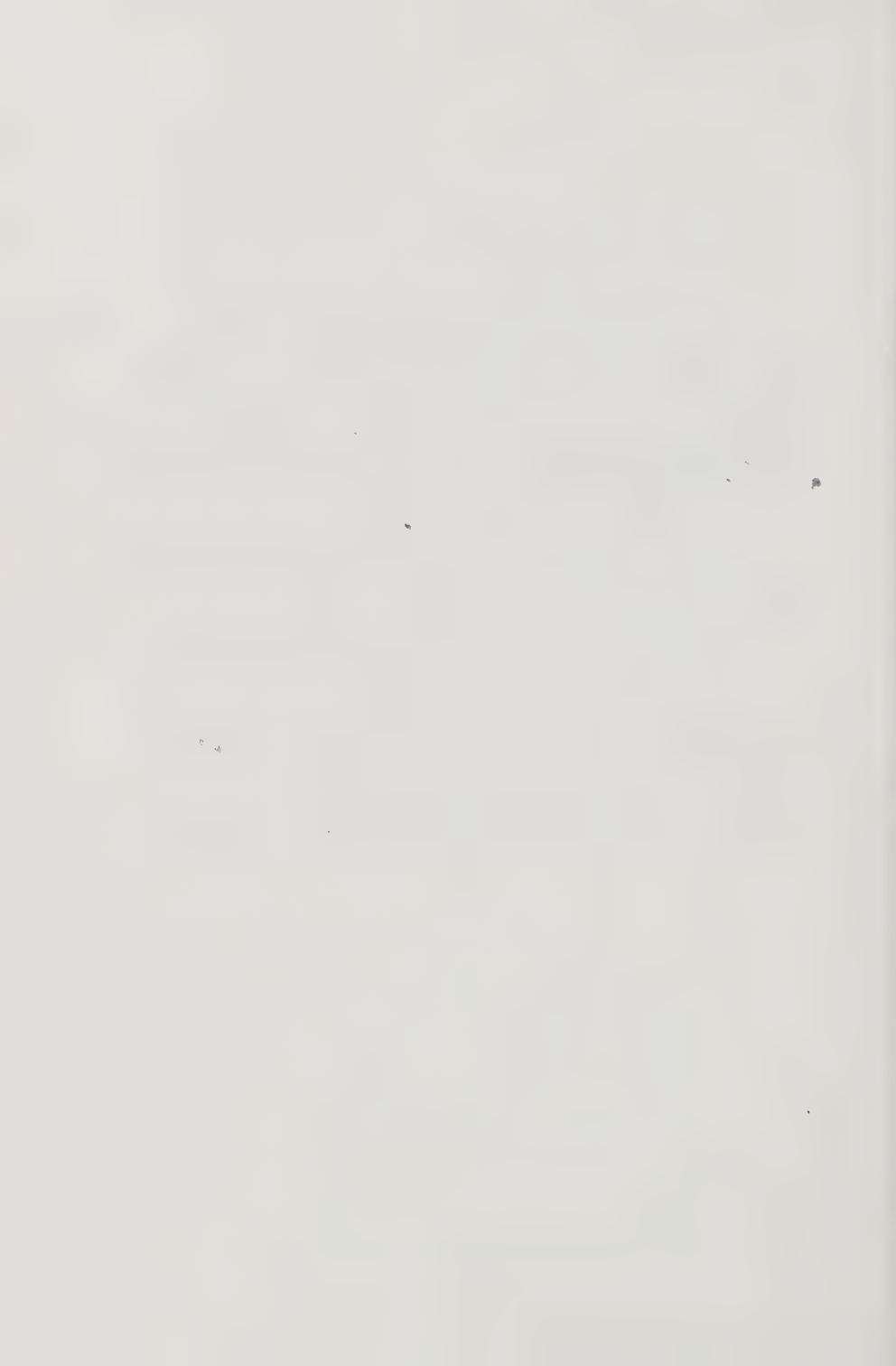
ADP = Adenosin-di-Phosphat  
ATP = Adenosin-tri-Phosphat  
EDTA = Äthylen-diamin-Tetraessigsäure  
FDP = Fructose - 1,6 -di-Phosphat  
FDPase = Fructose-1,6-Diphosphatase  
F-6-P = Fructose-6-Phosphat  
GAP = Glycerinaldehyd-Phosphat  
GAPDH = Glycerinaldehyd-Phosphat-Dehydrogenase  
GDH = Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase  
Glu-Dh = Glutaminsäure-Dehydrogenase  
GOT = Glutamat-oxalat-Transaminase  
GPT = Glutamat-pyruvat-Transaminase  
GSH = reduziertes Glutathion  
G-3-PK = Glucose-3-phosphat-Kinase  
G-6-P = Glucose-6-Phosphat  
G-6-PDH = Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase  
HK = Hexokinase  
 $\alpha$ -KGS =  $\alpha$ -Keto-Glutarsäure  
LDH = Lactat-Dehydrogenase  
MDH = Malat-Dehydrogenase  
NADH = reduziertes Nicotinamid-adenin-Dinucleotid  
(=DPNH)  
NADP<sup>+</sup> = Nicotinamid-adenindinucleotid-Phosphat  
(=TPN<sup>+</sup>)  
PEP = Phosphoenolpyruvat  
6-PGDH = 6-Phosphogluconsäure-Dehydrogenase  
PGK = Phosphoglycerat-Kinase  
2-PGS = 2-Phosphogluconsäure  
3-PGS = 3-Phosphogluconsäure  
PHJ = Phosphohexose-Isomerase  
PK = Pyruvat-Kinase  
Pyr. = Pyruvat  
TIM = Triose-Isomerase  
TRAP = Triäthanolamin-hydrochlorid-Puffer

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Linneweh für die freundliche Überlassung des Themas sowie Frau Dr. Ranft und Herrn Prof. Dr. Sekeris für die großzügige Hilfe während der Untersuchungen und deren Auswertungen ganz herzlich danken.

## L e b e n s l a u f

Am 30.5.1946 wurde ich als Sohn des Postbeamten Friedrich Koch und dessen Ehefrau Anna-Christina, geb. Meier, in Heinebach Krs. Melsungen als drittes Kind geboren. Von 1953 - 1957 besuchte ich in Heinebach die Grundschule, von 1957 - 1966 das Realgymnasium der Kreisstadt Melsungen, wo ich 1966 mein Abitur im math.-naturwiss. Zweig ablegte.

Im SS 1966 begann ich in Marburg das Studium der Medizin, legte 1967 die nat.wiss. Vorprüfung und im März 1969 das Physikum ab. Im Jahr 1970 begann ich in der Marburger Kinderklinik mit der experimentellen Arbeit meiner Dr.-Arbeit, die ich Ende 1971 abschließen konnte. Im Juli 1972 bestand ich das Med. Staatsexamen an der Philipps-Universität in Marburg. Meine anschließende Medizinal-Assistentenzeit absolvierte ich im Stadtkrankenhaus in Kassel in den Fächern Chirurgie, Gynäkologie und Innere Medizin.



Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Herren Professoren und Dozenten:

BECKMANN, BERENDES, BOMMER, BUCHHOLZ, DIMMROTH, DITTRICH, DÖLLE, Du MESNIL, EXNER, FRIEDRICH, GLOGNER, GRAUL, HAMELMANN, HARDEWIG, HENSEL, HENSSEN, HEUSER, HILDEBRAND, HORT, HUPE, JACOB, KAMKE, KARLSON, KORANSKY, KREUTZ, LINNEWEH, MAHR, MANN, MATTES, MARTINI, MILBRADT, NOCKE, OEHMIG, PETRY, POTS, RODECK, RODENHÄUSER, ROHEN, SCHIFF, SCHLEYER, SCHMID, SCHMITZ-MOORMANN, SCHWAIGER, SEIDEL, SIEGERT, STAIB, STRAUB, STREICHER, STROHMEIER, VOGT, VOSS, WALCHER, WILLENBOCKEL, WITZEL, WALTER, ZILLIKEN.

State of New York  
In SENATE,  
January 10, 1890.

REPORT  
OF THE  
COMMISSIONERS OF THE  
LAND OFFICE,  
IN ANSWER TO A  
RESOLUTION PASSED  
BY THE SENATE,  
JANUARY 10, 1890.  
ALBANY:  
J. B. LEECH, PRINTERS,  
1890.



